

Aus dem Robert Koch-Institut Berlin
Abteilung für Bakteriologie und Seuchenforschung
Direktor: Professor Dr. Hansjürgen R a e t t i g

WIRKSAMKEITSPRÜFUNG
VON ORALIMPFSTOFFEN AUS INAKTIVIERTEN TYPHUS-
BAKTERIEN IM AKTIVEN MÄUSESCHUTZTEST

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den
Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Joachim Kociok
aus Berlin

Berlin 1971

Aus dem Robert Koch-Institut Berlin
Abteilung für Bakteriologie und Seuchenforschung
Direktor: Professor Dr. Hansjürgen Raettig

WIRKSAMKEITSPRÜFUNG
VON ORALIMPFSTOFFEN AUS INAKTIVIERTEN TYPHUS-
BAKTERIEN IM AKTIVEN MÄUSESCHUTZTEST

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Joachim Kociok
aus Berlin

Berlin 1971

Referent: Professor Dr. med. Hansjürgen R a e t t i g

Korreferent: Professor Dr. med. Bernhard S c h m i d t



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche der
Freien Universität Berlin

Promoviert am: 13. Mai 1971

Inhaltsverzeichnis

	<u>Seite</u>
A. Einleitung	1
B. Material und Methoden	2
1. Versuchstiere	2
2. Impfstoffe	2
3. Immunisierung	3
4. Infektion	4
C. Ergebnisse	5
1. Versuche mit TAB Oral	6
2. Versuche mit Typhoral	10
3. Versuche mit d. 8138-Impfstoff	14
D. Diskussion	22
E. Zusammenfassung	25
F. Literatur	26

Digitized by the Internet Archive
in 2026

A. EINLEITUNG

Die Überbewertung serologischer Meßergebnisse bei der Prüfung von Impfstoffen auf ihre Wirksamkeit hatte dazu geführt, daß lange Zeit der parenteralen Typhusimpfung der Vorzug gegenüber einer oralen Immunisierung gegeben wurde. Zahlreiche Tier- und Feldversuche zeigten, daß orale Impfstoffe aus inaktivierten Typhusbakterien den Impfling vor einer der Infektion folgenden Erkrankung schützen, und der Antikörpertiter nicht den durch die Impfung erzielten Immunitätszustand des Organismus widerspiegelt (2-7, 9, 13, 20-22).

Das Bestreben, orale Typhusimpfstoffe von optimalem immunisatorischen Wert herzustellen, brachte das Problem, deren Wirksamkeit in einem geeigneten Verfahren prüfen zu können. Nach der Methode des aktiven Schutzversuches habe ich in Tierexperimenten an weißen Mäusen die Wirksamkeit zweier kommerzieller Mehrfachimpfstoffe Typhoral und TAB Oral und die eines selbstaufbereiteten Impfstoffes aus *S. typhi* 8138 geprüft.

B. MATERIAL UND METHODEN

1. Versuchstiere

Die Versuche wurden mit insgesamt 1325 weißen NMRI (Naval Medical Research Institute)-Mäusen aus der Zucht des Robert Koch-Institutes Berlin durchgeführt. Es handelte sich um gemischte Kollektive mit vorwiegend männlichen Tieren. Das durchschnittliche Körpergewicht bei Versuchsbeginn betrug etwa 17 Gramm. Je 25 bis 30 Tiere wurden in Plastik Käfigen gehalten und mit dem Trockenfutter Altromin und Leitungswasser ernährt. Die äußeren Versuchsbedingungen waren für alle Tiere gleich.

2. Impfstoffe

a. Typhoral

Kommerzieller Impfstoff der Behringwerke AG. Ein Dragee enthält zu je ein Drittel aufgeschlossenes Bakterienmaterial aus insgesamt 100 Milliarden Keimen von *S. typhi*, *S. paratyphi A* und *S. paratyphi B*. Jedes Dragee wurde nach Zermörserung in 10 ml physiologischer NaCl-Lösung aufgelöst. Eine Einzeldosis von 0,25 ml dieser Lösung enthielt $2,5 \times 10^9$ Keime.

b. TAB Oral

Hersteller, Zusammensetzung und Versuchsaufbereitung wie unter a. angegeben. Die auf der Verpackung vermerkte Lagerungs- und Haltbarkeitszeit bis zum 12.9.66. wurde bei Versuchsbeginn um mehrere Monate überschritten.

c. *Salmonella typhi* 8138

Zur Herstellung der Bakteriensuspension wurde der im TPE-Labor des Robert Koch-Institutes gezüchtete Stamm 8138 verwendet. Bouillon wurde zur Anzüchtung mit einer Öse dieses Stammes beimpft und 24 Stunden bei 37 °C im Brutschrank aufbewahrt. Danach wurden große Agarschalen mit 10 ml der infizierten Bouillon beschickt. Nach weiteren 24 Stunden Bebrütungsdauer bei 37 °C wurden die Bakterienrasen mit phosphatgepufferter Kochsalzlösung ($p_H = 7,2$) abgeschwemmt. In der Zentrifuge wurde die Bakteriensuspension bei 3000 U/min zweimal mit physiologischer Kochsalzlösung je eine Stunde lang gewaschen. Es wurde eine Keimzählung vorgenommen und der Titer durch entsprechendes Verdünnen mit NaCl-Lösung auf $1,7 \times 10^9$ Keime/ml eingestellt. Eine Einzeldosis von 0,25 ml enthielt $0,4 \times 10^9$ Keime. Zur Inaktivierung wurde der Impfstoff im Thermostaten bei 100 °C 10 Minuten lang erhitzt. Zur Sterilitätsprüfung wurden flüssige und feste Nährböden mit dem hitzeabgetöteten Impfstoff beschickt. Nach 24 stündigem Bebrüten war kein Bakterienwachstum festzustellen.

3. Immunisierung

An zehn aufeinanderfolgenden Tagen wurde den Versuchstieren täglich 0,25 ml des jeweiligen Impfstoffes oral mit einer stumpfen gebogenen Sonde zugeführt. Jede Maus erhielt also insgesamt 2,5 ml Impfstoff mit einer Gesamtkeimzahl von $2,5 \times 10^{10}$ (TAB Oral und Typhoral) bzw. $0,4 \times 10^{10}$ (8138). Die Kontrolltiere blieben unbehandelt. Zeichen einer Veränderung im Gesundheitszustand waren nach der Impfung bei den Immuntieren nicht zu beobachten.

4. Infektion

Zehn Tage nach der letzten Impfung wurde jede immunisierte und jede Kontrollmaus intraperitoneal infiziert. Als Infektionsmaterial diente der virulente Stamm *Salmonella typhi* 8138, der auch zur Impfstoffherstellung verwendet wurde. Nach Abimpfung von Agarplatten wurde eine Öse der Kultur in Vollbouillon gegeben und 6 Stunden bei 37 °C bebrütet. Die Tiere erhielten 0,1 ml dieser Bouillon anschließend intraperitoneal. Die Keimzahl betrug 10^8 /ml. Die Infektionsdosis bewirkte in Vorversuchen bei nicht immunisierten Tieren eine Endmortalität von 50 - 60 %.

Da nach dem 14. Tag nach der Infektion keine Sterbefälle mehr verzeichnet werden konnten, wurden die Versuche zu diesem Zeitpunkt beendet.

Herzblutuntersuchungen der gestorbenen Mäuse ergaben regelmäßig den Nachweis von Salmonellen. Somit konnten anderweitige Infektionen, die den Tod verursacht haben könnten, ausgeschlossen werden.

C. Ergebnisse

Es wurden in den Versuchen weiße Mäuse mit 3 Impfstoffen (TAB Oral, Typhoral, 8138) vergleichend oral immunisiert und mit *Salmonella typhi* 8138 intraperitoneal infiziert. Die einzelnen Versuche wurden zur gleichen Zeit durchgeführt. Die Dosierung des Impf- und Infektionsmaterials, der Impfrhythmus und zeitliche Infektionsabstand sowie die äußeren Konditionen der Tiere wurden während der Versuchsdauer nicht verändert.

Die Wirksamkeit der oralen Impfstoffe wurden gemessen an der Mortalitätssenkung der immunisierten Tiere gegenüber den unbehandelten Kontrolltieren. Die Schutzwirkung zeigt sich in den beobachteten Mortalitätsdifferenzen am Ende des Versuches, diese wurden nach Koller (8) auf ihre statistische Signifikanz überprüft.

Um den immunisierenden Wert der einzelnen Impfstoffe vergleichen zu können, sind für die Einzel- und Gesamtversuche die Wirkungsindices nach folgender Formel errechnet worden:

$$W = \frac{(b - a) \times 100}{b}$$

Es bedeuten:

W = Wirkungsindex

a = Endmortalität der geimpften Tiere

b = Endmortalität der Kontrolltiere

Alter TAB Oral-Impfstoff

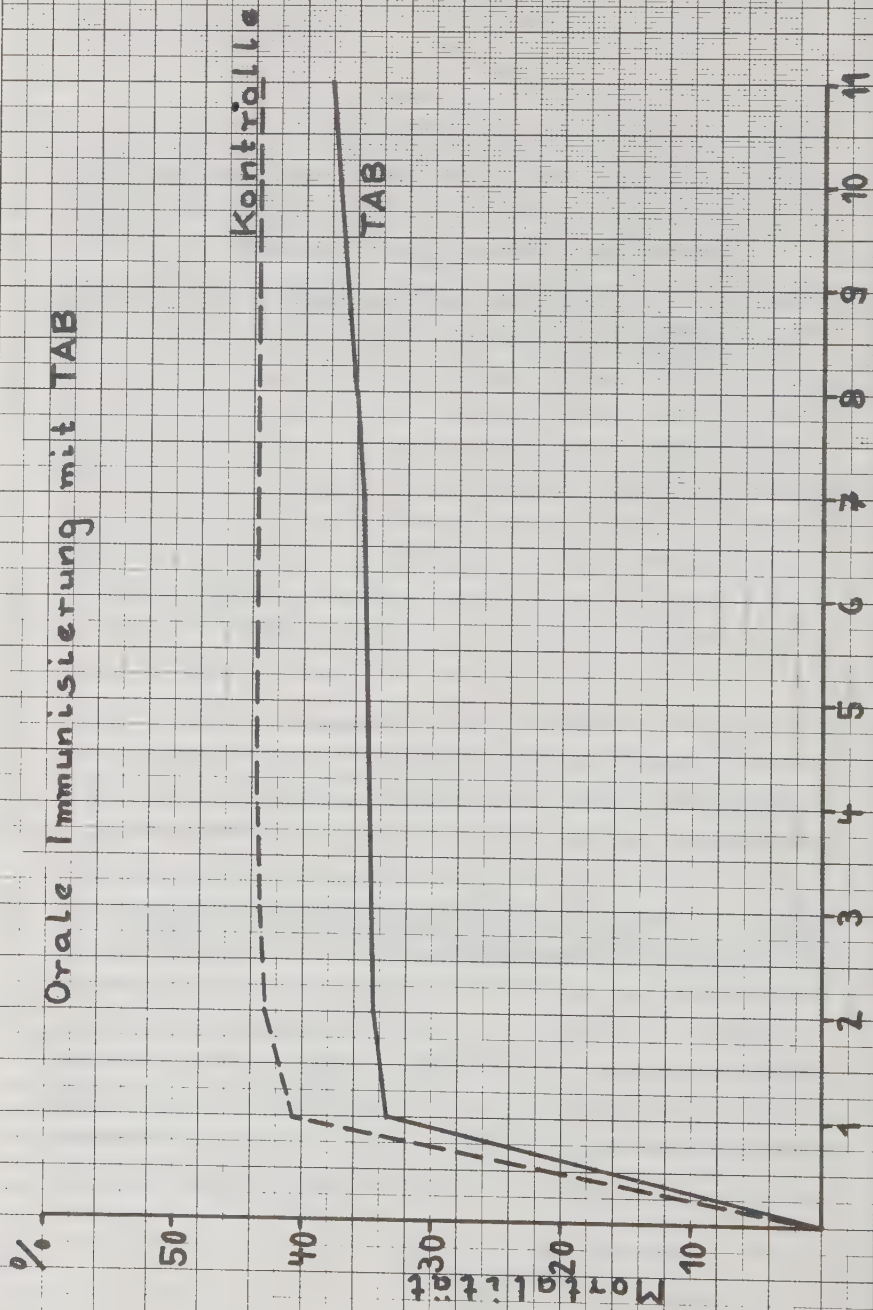
In der Tabelle 1 sind die Versuchsergebnisse mit dem TAB-Oral-Impfstoff, dessen Lagerungszeit überschritten war, zusammengestellt. Es wurden 7 Einzelversuche mit insgesamt 347 Immuntieren und 342 Kontrolltieren durchgeführt. Die Endmortalität ist in 5 Versuchen bei den geimpften Tieren niedriger als bei den Kontrollen. In Versuch 3 kommt der Impferfolg am besten zur Darstellung, der Wirkungsindex ist hier mit 49 am größten. Die Differenz zwischen den Endmortalitätszahlen ist aber in diesem wie auch in den anderen Versuchen zu gering, um statistisch gesichert zu sein. In der Summe aller 7 Versuche ist die Endmortalität der geimpften Tiere mit 38 % im Vergleich zu den Kontrollen mit 43,6 % um 5,6 % geringer. Da die größte zugelassene Zufallsdifferenz D_z mit 7,8 % nach Koller höher liegt und der Grad der statistischen Echtheit, errechnet aus $D_b : D_z$, mit 0,71 kleiner als 1 ist, kann das Ergebnis statistisch nicht signifikant sein. Der Wirkungsindex beträgt 12,7.

Abbildung 1 stellt in Summenkurven der 7 Einzelversuche den Verlauf der Sterblichkeit nach intraperitonealer Infektion der mit TAB Oral immunisierten Tiere und der Kontrollen dar. Die Schutzwirkung des Impfstoffes zeigt sich in einem geringeren Anstieg der Mortalitätskurve der geimpften Mäuse in den ersten 48 Stunden und in der Differenz beider Kurven gegen Versuchsende. Der Impferfolg wird auch in den Epidemiekurven der Abbildung 2 deutlich, in der die täglichen Sterbefälle dargestellt sind. Fast alle Todesfälle bei den Kontrollen treten in den beiden ersten Tagen auf. Nur je eine Maus stirbt noch am 3. und 4. Tage nach der Infektion. Die Kurve der immunisierten Tiere klingt langsamer ab und hat am 11. Tag noch einen Gipfel. Im Vergleich zu den unbehandelten Tieren ist die Überlebenszeit der mit dem TAB Oral-Impfstoff immunisierten Tiere verlängert.

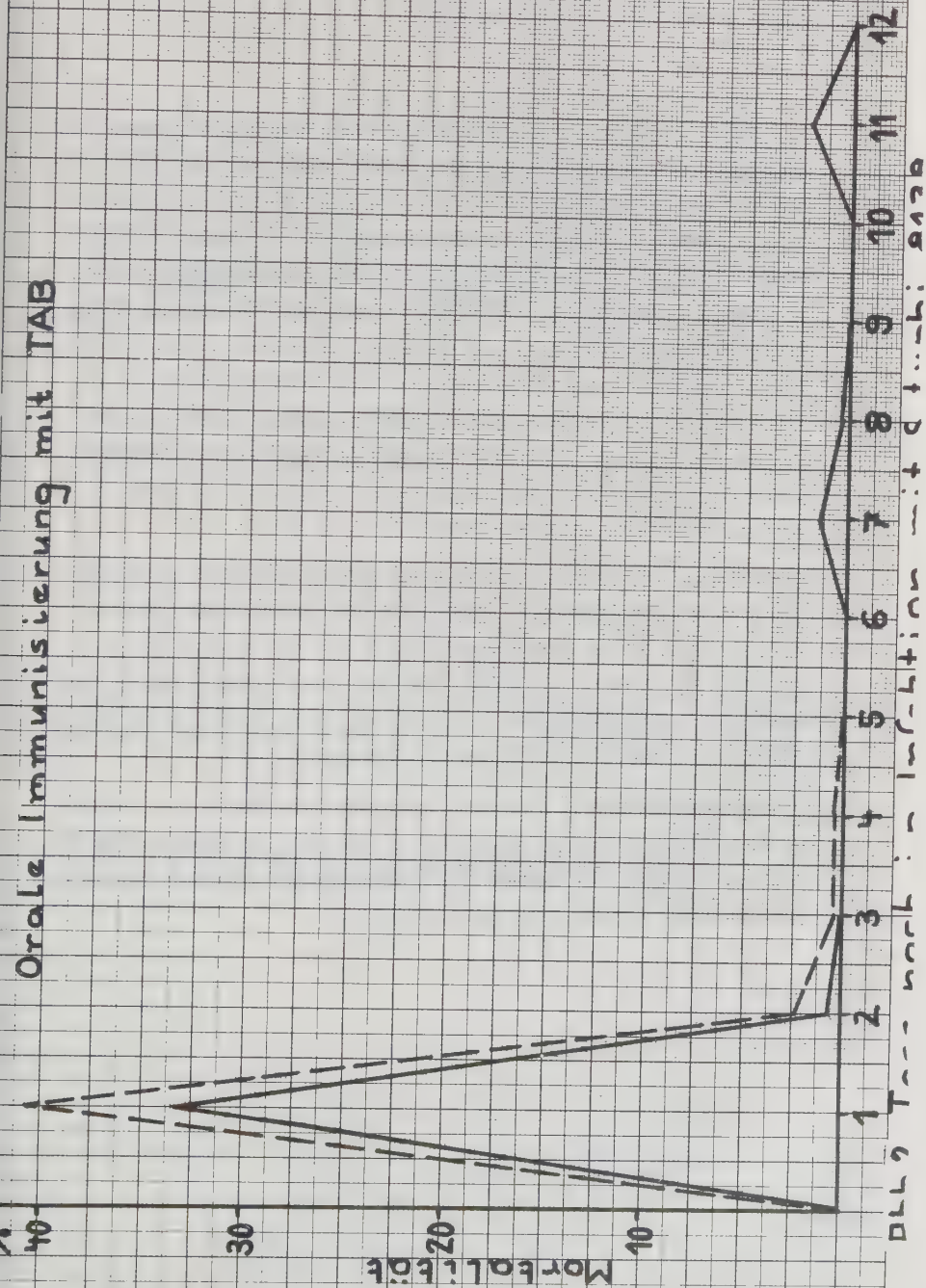
Versuch	Immunisierte Tiere			Kontrolltiere			Wirkungs- index
	Zahl der Mäuse	davongestorben abs.	%	Zahl der Mäuse	davongestorben abs.	%	
1	50	23	46,0	53	36	67,9	32,3
2	54	16	33,7	49	8	16,3	0
3	49	4	8,2	50	8	16,0	48,7
4	47	13	27,6	44	13	29,6	10,1
5	49	32	65,3	47	30	60,4	0
6	50	22	44,0	50	24	48,0	8,3
7	48	22	45,8	49	30	61,2	25,2
Summe	347	132	38,0	342	149	43,6	12,7

Tabelle 1 : Ergebnisse der oralen Immunisierung mit TAB Oral
Infektion intraperitoneal

Orale Immunisierung mit TAB



Orale Immunisierung mit TAB



Typhoral

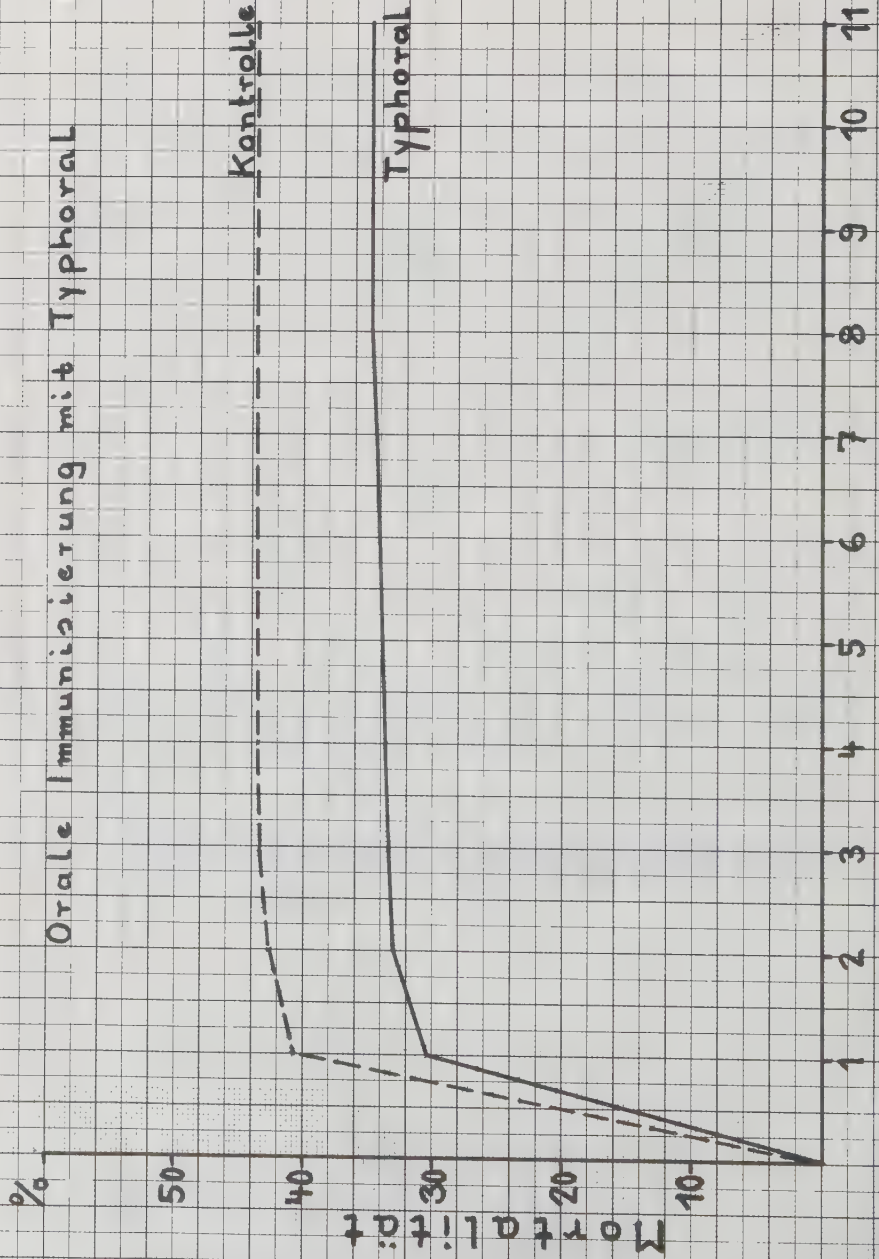
In Tabelle 2 sind die Versuchsergebnisse mit dem kommerziellen Impfstoff Typhoral aufgestellt. In 7 Einzelversuchen wurden 340 immunisierte Tiere vergleichend zu den Kontrollen intraperitoneal belastet. Wieder sind in 5 Versuchen die Endmortalitäten der geimpften Tiere niedriger als die der unbehandelten. Mit 33,3 ist der Wirkungsindex in Versuch 6 am größten, die Mortalitätsdifferenz beträgt hier 16 %. In der Zusammenfassung aller 7 Versuche konnte Mortalität bei den oral immunisierten Mäusen gegenüber den Kontrolltieren von 43,6 % auf 34,7 % gesenkt werden. Die beobachtete Differenz beträgt also 8,9 %, der Wirkungsindex 20,3. Die größte zugelassene Zufallsdifferenz D_z beträgt 7,7 %, der Echtheitsgrad 1,15. Die Differenzen in der Mortalität sind somit signifikant.

In Abbildung 3 ist der Infektionsverlauf in Summenkurven dargestellt. Beide Kurven steigen wie in Abbildung 1 steil an und verlaufen nach dem 2. Tag p.i. annähernd horizontal, da nur noch wenige Mäuse sterben. Der Abstand der Kurven am Ende des Versuches ist als Ausdruck einer besseren Impfwirkung des Typhoral Impfstoffes im Vergleich zum TAB Oral größer als in Abbildung 1.

Die Epidemiekurven in Abbildung 4 verdeutlichen wieder die verlängerte Überlebenszeit der geimpften Tiere. Während die Epidemie bei den Kontrollen am 4. Tag beendet ist, sterben die mit Typhoral immunisierten Tiere vereinzelt bis zum 8. Tag p.i..

Versuch	Immunisierte Tiere			Kontrolltiere			Wirkungs- index
	Zahl der Mäuse	davon gestorben abs.	%	Zahl der Mäuse	davon gestorben abs.	%	
1	43	20	46,5	53	36	67,9	31,5
2	47	8	17,0	49	8	16,3	0
3	50	6	12,0	50	8	16,0	25,0
4	50	22	44,0	44	13	29,6	0
5	50	22	44,0	47	30	60,4	27,2
6	50	16	32,0	50	24	48,0	33,3
7	50	24	48,0	49	30	61,2	21,6
Summe	340	118	34,7	342	149	43,6	20,3

Tabelle 2 : Ergebnisse der oralen Immunisierung mit Typhoral
Infektion intraperitoneal



Urale Immunisierung mit Typhoral

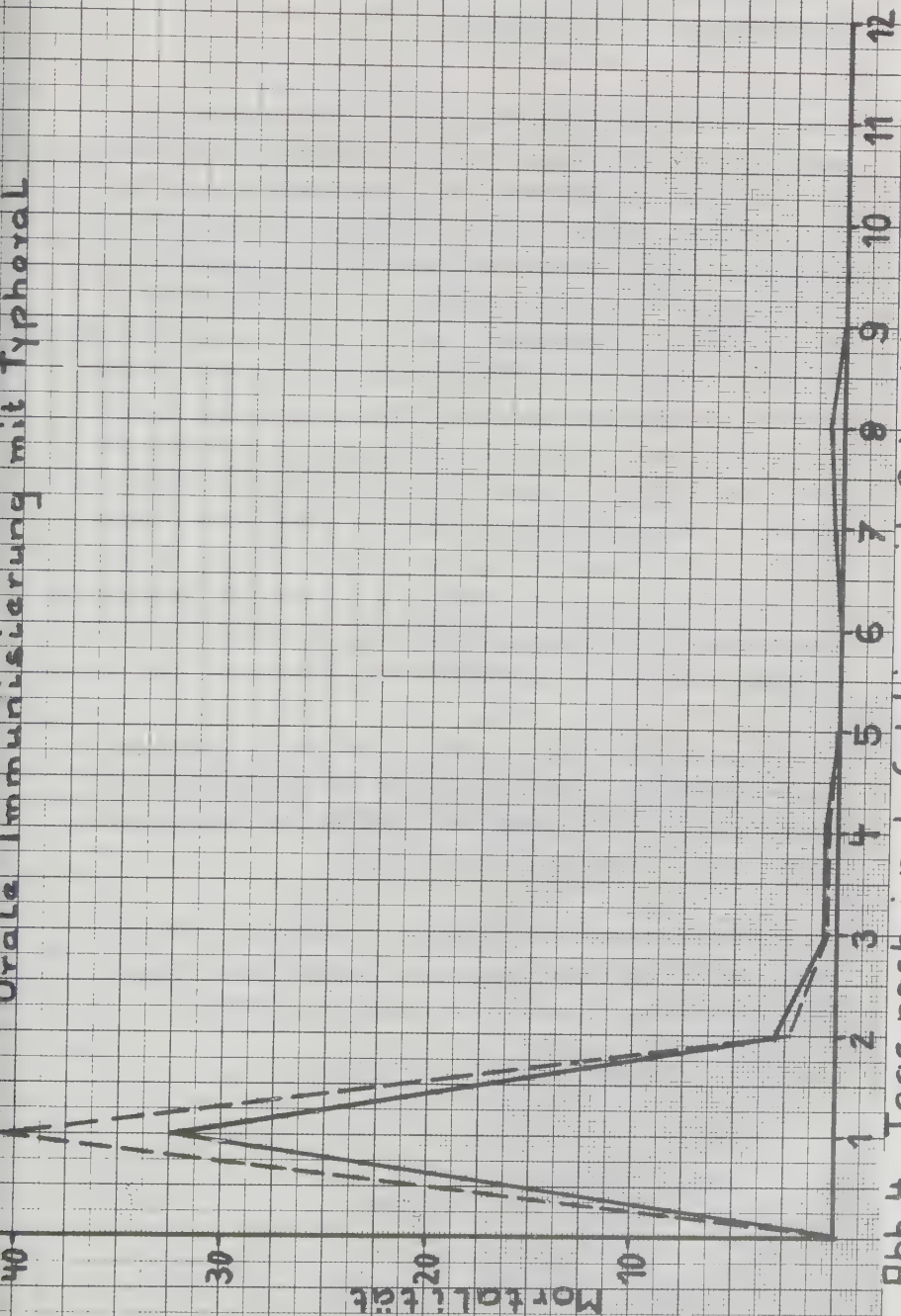


Abb. 4 Tage nach i.p. Infektion mit S. typhi 8138

Typhusimpfstoff eigener Herstellung

Tabelle 3 zeigt die Ergebnisse der Versuche mit dem spezifischen Impfstoff *S. typhi* 8138. Es wurden in 6 Einzelversuchen 296 Mäuse immunisiert und anschließend mit den unbehandelten Tieren intraperitoneal infiziert. Nur im Versuch 4 war keine Schutzwirkung festzustellen, hier war die Mortalität der geimpften Tiere sogar höher als die der Kontrollen. Ein Versuch mußte ergebnislos abgebrochen werden, da kurz vor Beendigung alle Tiere einer interkurrenten Infektion erlagen. In den beiden letzten Versuchen ist der Impferfolg am besten, die Endmortalitätsdifferenzen und die Wirkungsindices sind am größten. Trotz der geringen Anzahl der Tiere sind beide Ergebnisse statistisch gesichert. In der Summation ergibt sich eine Mortalitäts-senkung bei den immunisierten Tieren von 39,1 % auf 21,3 % im Vergleich zu den Kontrollen. Die beobachtete Mortalitätsdifferenz beträgt also 17,8 %, der Wirkungsindex 45,5. Da die errechnete Zufallsdifferenz D_z mit 7,2 % niedriger als D_b ist, der Echtheitswert $E = 2,47$ beträgt, ist das Versuchsergebnis statistisch signifikant.

Abbildung 5 zeigt die Summenkurven, die nach dem 2. Tag parallel zueinander verlaufen. Auffallend gering ist der Anstieg der Mortalitätskurve für die immunisierten Tiere, die Differenz zwischen beiden Kurven ist gegen Versuchsende sehr deutlich.

Die Epidemiekurve der geimpften Mäuse in Abbildung 6 verläuft nach dem ersten Epidemiegipfel einen Tag nach der gesetzten Infektion gleichförmig zu der Kurve der nicht immunisierten Mäuse.

Versuch	Immunisierte Tiere			Kontrolltiere			Wirkungs- index
	Zahl der Mäuse	davon gestorben abs.	%	Zahl der Mäuse	davon gestorben abs.	%	
2	50	4	8,0	49	8	16,3	50,9
3	50	2	4,0	50	8	16,0	75,0
4	47	22	46,7	44	13	29,6	0
5	50	22	44,0	47	30	60,4	27,5
6	50	6	12,0	50	24	48,0	75,0
7	49	7	14,3	49	30	61,2	76,7
Summe	296	63	21,3	289	113	39,1	45,5

Tabelle 3: Ergebnisse der oralen Immunisierung mit S.typhi 8131
Infektion intraperitoneal

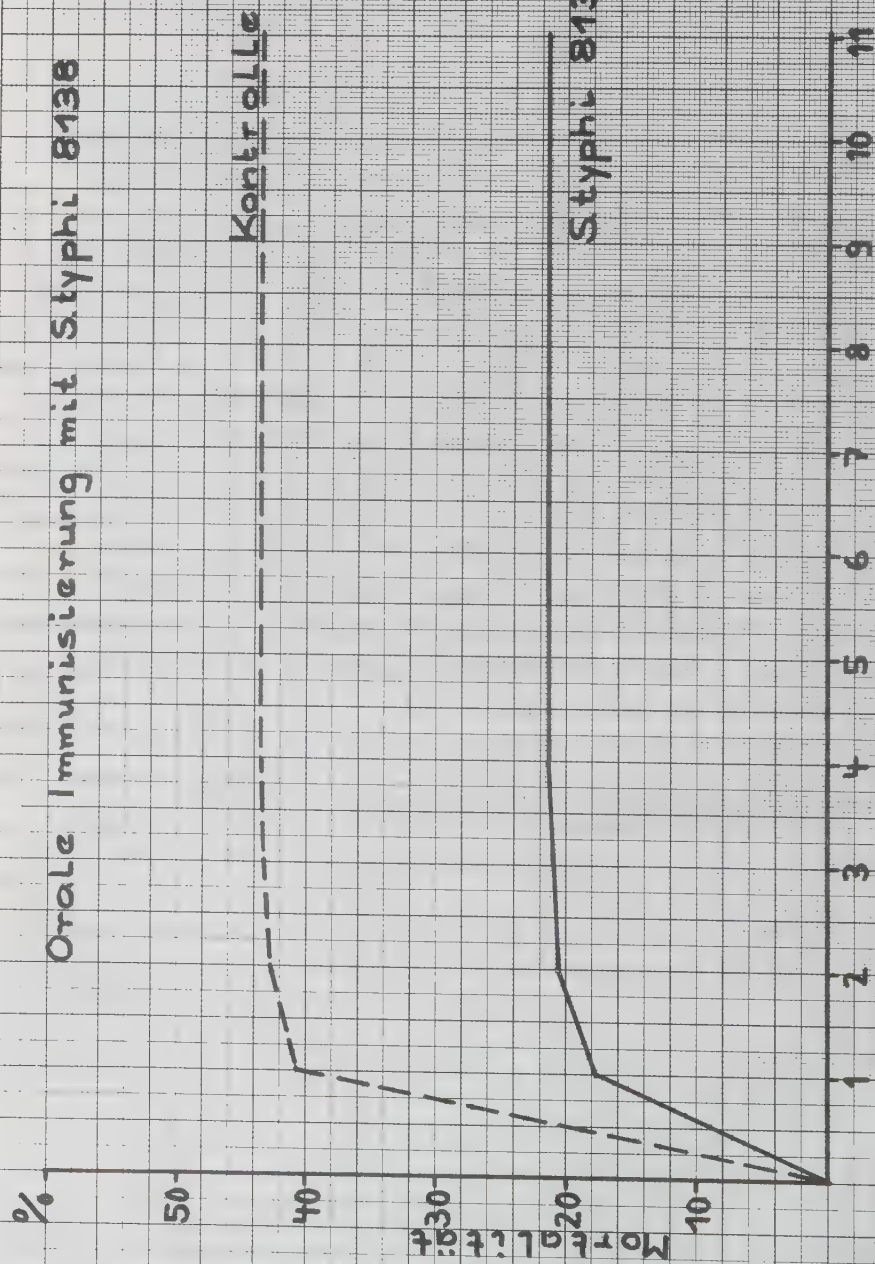


Abb. 5 Tage nach i.p. Infektion mit StypHi 8138

Orale Immunisierung mit S.typhi 8138

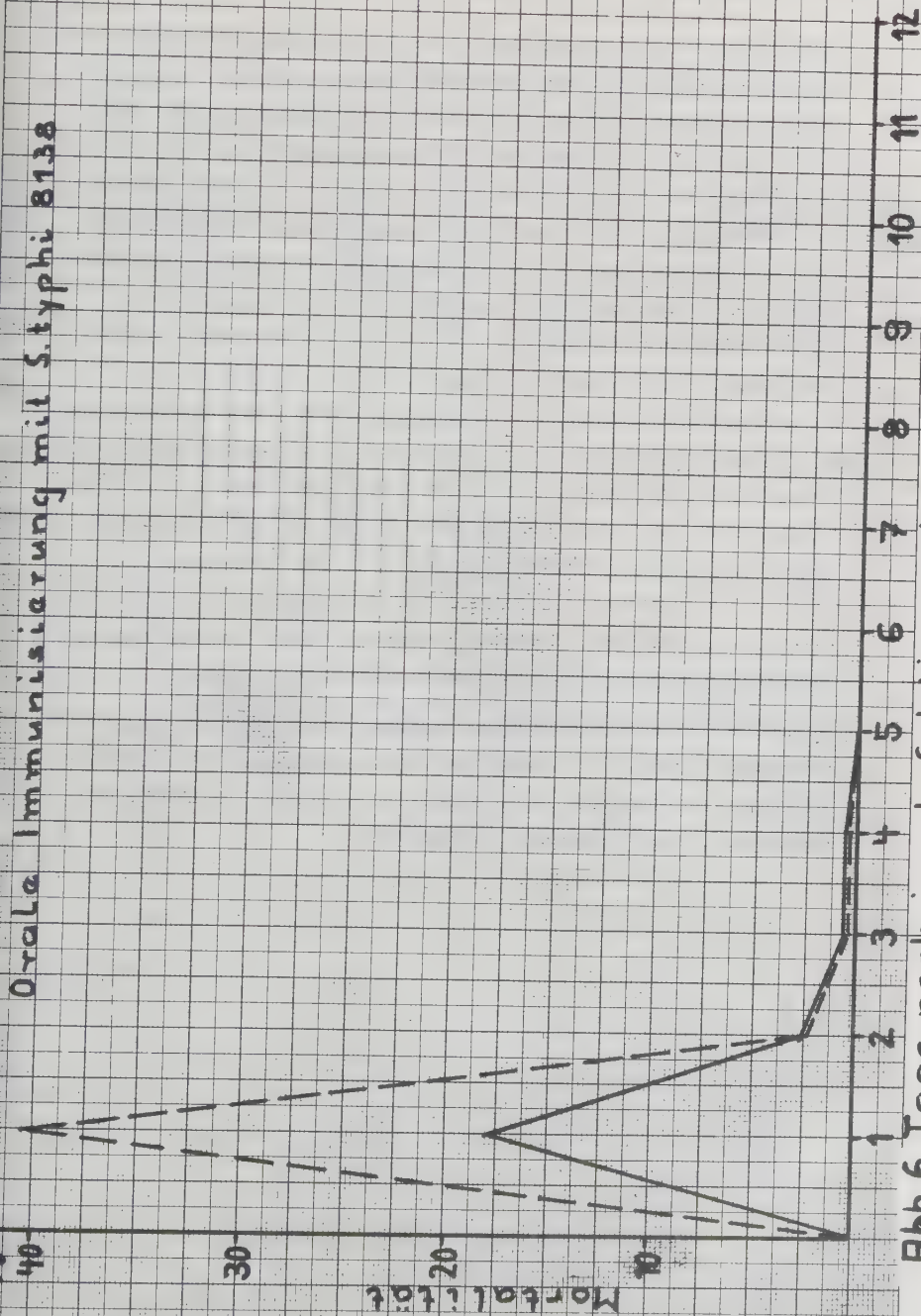


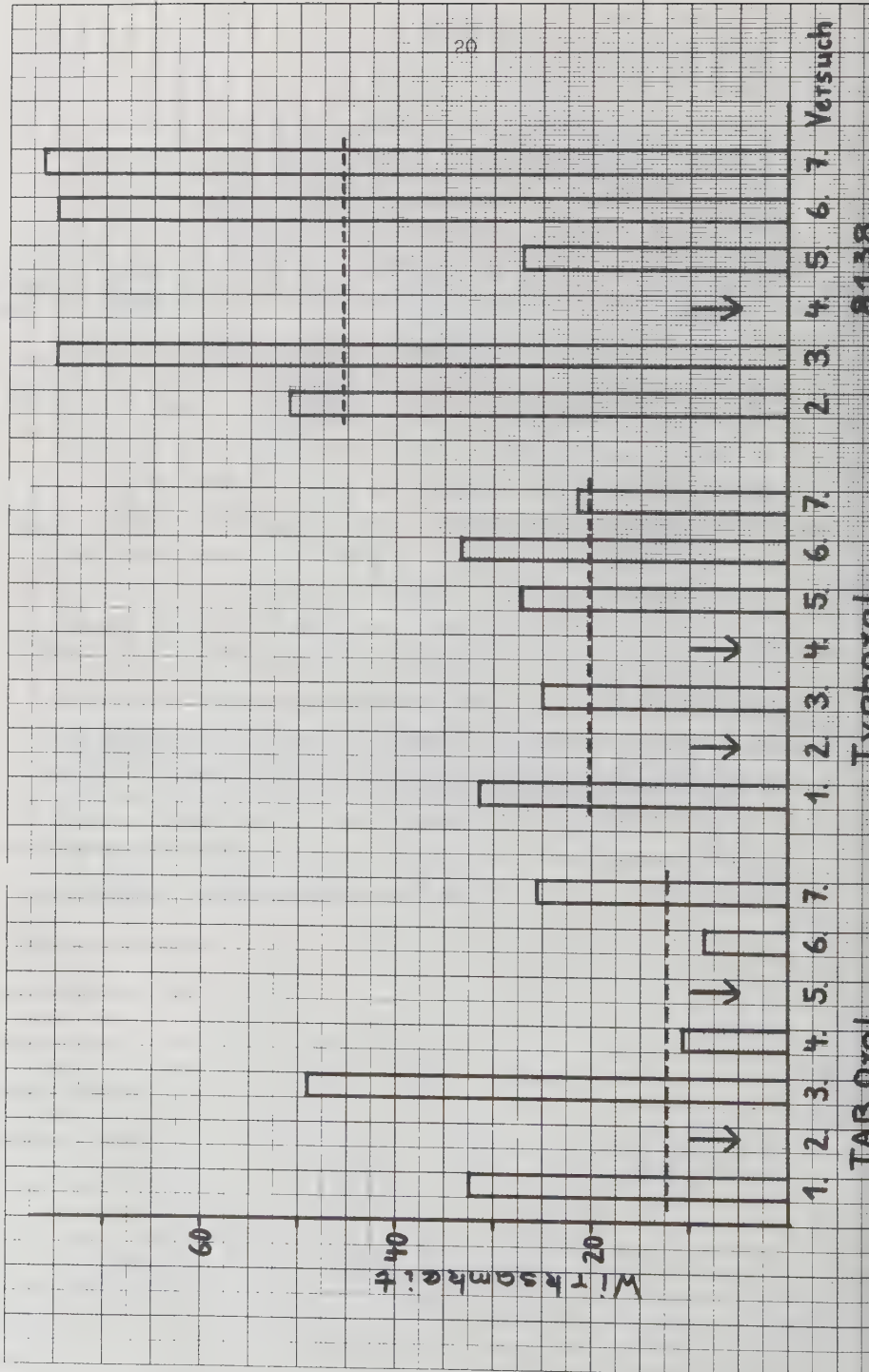
Abb.6 Tage nach i.p. Infektion mit S.typhi 8138

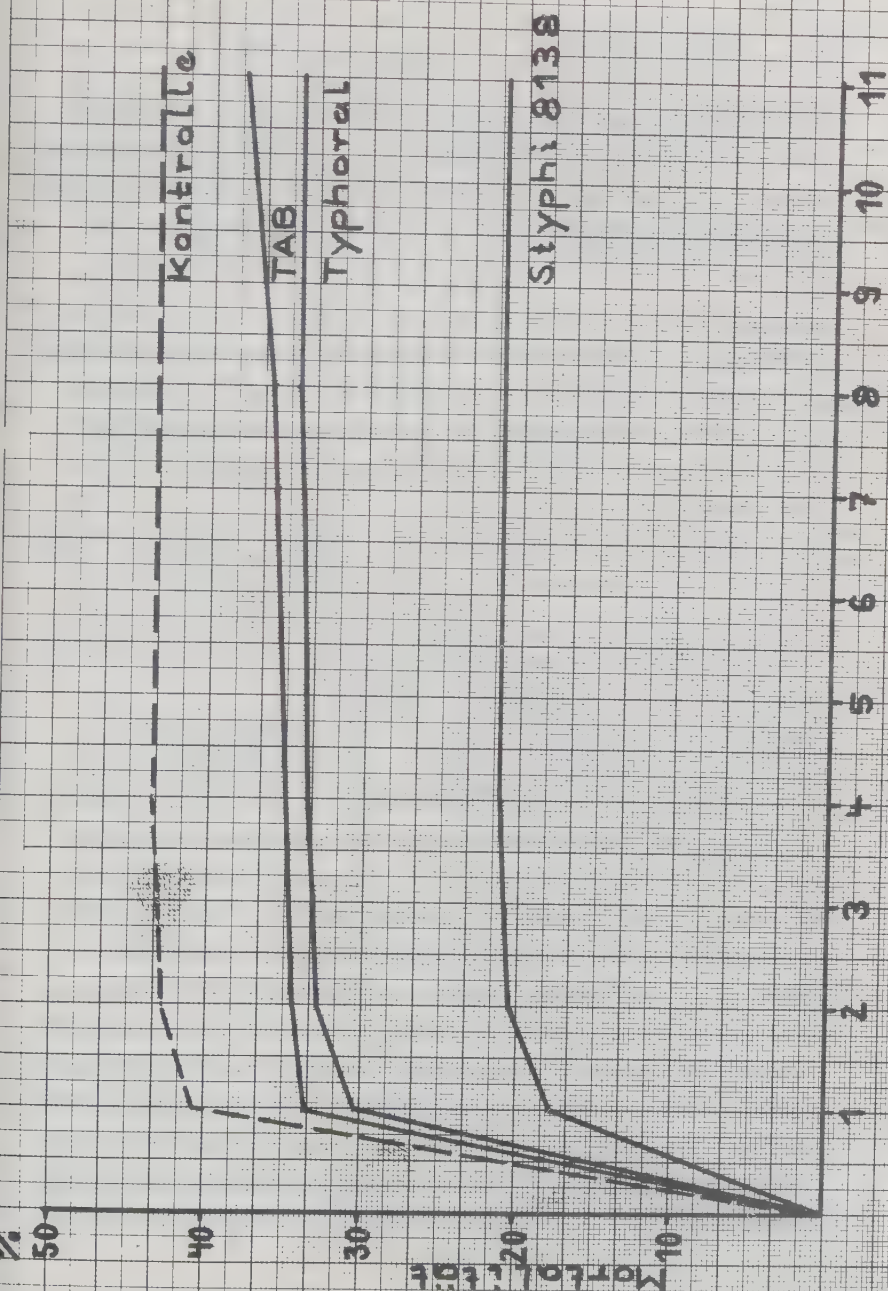
In der Tabelle 4 sind die Ergebnisse der Wirksamkeitsprüfung der drei Impfstoffe zusammenfassend dargestellt und ausgewertet. Die berechnete Wirksamkeit stellt den Mittelwert aus den Einzelversuchen dar. Um festzustellen, inwieweit der Mittelwert durch extreme Ergebnisse in Einzelversuchen bestimmt worden ist, habe ich in der Abbildung 7 die Wirkungsindices für jeden Versuch eingezeichnet. Die Abbildung gibt eine Übersicht über die Beständigkeit der Wirksamkeit der oralen Impfung im Versuchsverlauf. Die größten Abweichungen sind beim TAB Oral Impfstoff festzustellen. Beständiger in den einzelnen Versuchen ist die Wirksamkeit von Typhoral, obwohl auch hier in zwei Versuchen die Endmortalität der geimpften Mäuse höher lag als die der Kontrollen, befinden sich die Wirkungsindices der restlichen fünf Einzelversuche in der Nähe des in der Abbildung gestrichelt dargestellten Mittelwertes. Die mittlere Wirksamkeit im Verlauf der Prüfung des spezifischen 8138 Impfstoffes wird durch das relativ schlechte Ergebnis im 5. Versuch und das völlige Fehlen der Immunwirkung in Versuch 4 stark beeinflusst. Obwohl in Versuch 3, 6 und 7 die Wirkungsindices 75 und mehr betragen, liegt der Mittelwert nur bei 45, 5.

Um die Versuchsergebnisse besser vergleichen zu können, sind die Infektionsverläufe der mit den verschiedenen Impfstoffen immunisierten Mäuse im Vergleich zu den Kontrollen in den Summenkurven der Abbildung 8 zusammenfassend dargestellt.

Orale immunisierung mit	i. p. Infektion mit	Zahl der Mäuse	Morta- lität in %	WI.	D_b	D_z	$E = \frac{D_b}{D_z}$	Leistungs- index
AB Oral	S. ty. 8138	347	38,0	12,7	5,6	7,8	0,71	28
Typhoral	S. ty. 8138	340	34,7	20,3	8,9	7,7	1,15	44
. ty. 8138	S. ty. 8138	296	21,3	45,5	17,8	7,2	2,47	100
eine	S. ty. 8138	342	43,6	----	----	----	----	---

Tabelle 4: Statistische Zusammenfassung der Ergebnisse der Versuche mit verschiedenen Impfstoffen bei oraler Immunisierung und nachfolgender intraperitonealen Infektion.



Abb. 8
Tage nach i.p. Infektion mit styphi 813B

D. DISKUSSION

Alle in den aktiven Schutzversuchen geprüften Impfstoffe zeigten eine wenn auch unterschiedliche Wirksamkeit. Die Wirksamkeitsprüfung der oralen Typhusimpfstoffe wurde nach dem bekannten Prinzip des aktiven Mäuseschutzversuches durchgeführt: Tiere werden immunisiert und nach einem Zeitraum auf ihre belastungsfähige Immunität geprüft.

Die Belastungsprüfung erfolgte intraperitoneal, da aus den Erfahrungen vorangegangener ähnlicher Untersuchungen bei diesem Infektionsmodus eine sicherere Mortalität erreicht wird als bei einer oralen Infektion (10). Bewertungsgrundlage für die Immunisierungsfähigkeit der Impfstoffe war die Mortalität der geimpften im Vergleich zu den nicht behandelten Tieren.

Die Untersuchung auf Anzeichen der Morbidität, Blutbildkontrollen, Temperaturmessungen usw. lassen sich als Bewertungsmaßstäbe für die Impfstoffprüfung im aktiven Schutzversuch nur bedingt verwerten, da diese Beobachtungen nicht definitiv mit der Schwere des Krankheitsverlaufes in Beziehung gebracht werden können.

Zahlreiche Autoren hatten in früheren Untersuchungen die Antikörpertiter im strömenden Blut bestimmt und aus deren Höhe den Immunisierungsschutz einer Impfung abgeleitet (1, 11, 12). Da im Gegensatz zur parenteralen Antigenezufuhr der Nachweis humoraler Antikörper nach oraler Immunisierung mit den gewöhnlichen serologischen Meßmethoden oft nicht gelang oder aber der Titer sehr gering war, wurde die orale Impfmethode in der Praxis lange Zeit vernachlässigt.

EPSTEIN (2) war einer der ersten, der erkannte, daß die Antikörpertiter in ihrer Höhe nicht mit dem Grad der Immunität korrelieren. Die in den letzten Jahren durchgeführten Experimente von RAETTIG (14-19) und LIETZ (10) bestätigten die Ansicht auch anderer Autoren, daß trotz geringer humoraler Antikörpertiter nach oraler Impfung bei folgender Infektionsbelastung ein guter Schutz vorhanden ist. In den Tierversuchen waren die mit dem Impfstoff aus *S. typhi* 8138 immunisierten und homo-

log intraperitoneal infizierten Mäuse am besten geschützt. Von 296 Mäusen, die den Impfstoff oral appliziert bekamen, starben nach der Infektion 21,3%. Die Mortalitätsdifferenz von 17,8% zu den Kontrolltieren war hier am größten, der Impferfolg ist mit dem Echtheitsgrad der Differenz $E = 2,47$ statistisch gesichert.

Mit einem Wirkungsindex von 45,5 ist die immunisatorische Wirksamkeit des S.typhi 8138-Impfstoffes um mehr als doppelt so groß wie die des kommerziellen Typhoral-Impfstoffes.

Bei insgesamt 340 mit Typhoral immunisierten Mäusen betrug die Mortalität post infectionem 34,7%, die Differenz zur Mortalität der unbehandelten Tiere war mit 8,9% bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% statistisch gesichert. Der errechnete Wirkungsindex von 20,3 liegt noch deutlich über dem Index, den der TAB Oral-Impfstoff erzielte.

347 TAB-Oral immunisierte Mäuse wiesen eine Endmortalität von 38% auf, die Mortalitätsdifferenz von 5,6% lag innerhalb des statistischen Streuungsbereiches. Mit dem Wirkungsindex 12,7 erreichte dieser Impfstoff, obwohl er in der Zusammensetzung mit dem Typhoral identisch war, nicht unerwartet das schlechteste Ergebnis. Bei Versuchsbeginn war die vom Hersteller angegebene höchstzulässige Lagerungszeit um mehrere Monate überschritten. Durch die Überalterung des Impfstoffes kann eine Schädigung der antigen wirkenden Substanzen eingetreten sein.

Bei der Wirksamkeitsprüfung waren in den drei Versuchsgruppen jeweils einige Einzelversuche, in denen keine, bzw. eine negative Schutzwirkung zu beobachten war, d.h. es überlebten nach der Infektion am Versuchsende mehr Kontroll- als Immuntiere. Derartige "Ausreisser", die das Gesamtergebnis beeinflussen, wurden auch in früheren Experimenten RAETTIGs und anderer Untersucher beobachtet, ohne daß sich immer eine Erklärung dafür finden ließ. Es muß deshalb für die Impfstoffprüfung im aktiven Schutzversuch eine ausreichend große Tierzahl gewählt werden. Bei der Auswertung der Experimente läßt sich dann mit Hilfe der Statistik die Zufallsbedingtheit der Ergebnisse berechnen. Beträgt die Wahrscheinlichkeit 5% oder weniger, so können die Ergebnisse nach

allgemeiner Konvention als statistisch signifikant angesehen werden.

Als Versuchstiere für die Impfstoffprüfung im aktiven Schutzversuch sind kleine Nager, besonders Mäuse, gut geeignet, da sie unter Laboratoriumsbedingungen in großer Zahl und ohne großen Aufwand wirtschaftlich zu halten sind. Seit 1960 wurden Mäuse im Robert Koch-Institut in zahlreichen Prüfungen und weiterführenden Untersuchungen mit nicht vermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen oral immunisiert (14 - 19). Aus den Analysen der Ergebnisse sind wichtige Aufschlüsse über grundlegende Fragen der optimalen Impfstoffherstellung und Dosierung, des Impfrhythmus, der Dauer und Spezifität des Impfschutzes gewonnen worden, so daß die Wirksamkeitsprüfung von Oralimpfstoffen aus inaktivierten Typhusbakterien im aktiven Mäuseschutztest hier fast den Grad eines Routineverfahrens erreicht hat.

E. ZUSAMMENFASSUNG

In Tierversuchen an weißen Mäusen wurde die orale Wirksamkeit der kommerziellen Impfstoffe Typhoral und TAB Oral und die eines selbst-aufbereiteten Impfstoffes aus *S. typhi* 8138-Bakterien nach dem Prinzip des aktiven Schutztestes geprüft und berechnet. Die Infektion erfolgte intraperitoneal und wurde mit dem Stamm *S. typhi* 8138 vorgenommen.

Die beste Schutzwirkung zeigte der durch Hitzeinaktivierung aus dem zum Infektionsstamm homologen 8138-Stamm gewonnene Impfstoff, dessen berechneter Wirkungsindex mehr als doppelt so groß war wie der des Typhoral Impfstoffes.

Die Wirksamkeit des überalterten TAB Oral-Impfstoffes war am geringsten.

F. LITERATUR

1. ENGELHARDT, H.

Experimentelle Beiträge zur oralen Typhusimmunisierung.

Z. Immun.-Forsch. 121, 437 (1961)

2. EPSTEIN, S.

Rev. Med 55, 504 (1938)

3. HEYMANN, G. und JANDL, G.

Experimentelle Untersuchungen zur Wertbemessung von Typhusimpfstoffen

Z. Immun.-Forsch. 119, 279 (1960)

4. Experimentelle Untersuchungen zur Wertbemessung von Typhusimpfstoffen.

Z. Immun.-Forsch. 120, 376 (1960)

5. JANDL, G.

Experimentelle Untersuchungen zum Mechanismus der oralen Typhusimmunisierung.

Z. Hyg. Infekt.-Kr. 151, 34 (1965)

6. JANDL, G.

Experimentelle Untersuchungen zum Mechanismus der oralen Typhusimmunisierung.

Z. med. Mikrobiol u. Immunol. 152, 211 (1966)

7. JOO, I., PUSZTAL, S. u. JUHASZ, VP.

Untersuchungen zur Bewertung der in British-Guayana und Jugoslawien erprobten Typhusvaccinen.

8. KOLLER, S.

Graphische Tafeln zur Beurteilung statistischer Zahlen.

Dresden 1943

9. LANGE, B. u. KAUFFMANN, F.

Experimentelle Untersuchungen über die Immunität beim Mäusetyphus.

Z. Hyg. Infekt.-Kr. 115, 110 (1933)

10. LIETZ, B., RAETTIG, H.

Orale Immunisierung mit nicht vermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihrer Antigenen. 5. Mitteilung:
Tierversuche zur Schutzimpfung gegen Dyspepsiecoli-Infektionen.
Zbl. Bakt. I. Orig. 204, 543 (1967)

11. LIPP, R.

Über den Nachweis der Wirkung von Typhusimpfstoffen und Typhussera durch Blutkultur im Mäuseversuch.
Z. Immun.-Forsch. 114, 235 (1957)

12. LIPP, R., IHM, P.

Ein quantitativer Bakteriämietest an der Maus zur Bewertung der Typhusimpfstoffe u. -sera.
Z. Hyg. 145, 14 (1958)

13. POLISH TYPHOID COMMITTEE

Bull. Wld. Hlth. Org. 32, 15 (1965)

14. RAETTIG, H.

Tierexperimente zur oralen Immunisierung mit inaktiviertem Antigen.
Zbl. Bakt. I Orig. 182, 525 (1961)

15. RAETTIG, H.

Die lokale Immunisierung mit inaktiviertem Antigen gegen bakterielle Darminfektionen (Typhus, Paratyphus, Cholera, Ruhr).

16. RAETTIG, H.

Orale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen. 1. Mitteilung: Der Grundversuch zur Schutzimpfung der Maus gegen eine Enteritis-Infektion.

17. RAETTIG, H.

Orale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen. 2. Mitteilung: Experimente zur unspezifischen Schutzimpfung bei der Enteritis-Infektion der Maus.
Zbl. Bakt. I. Orig. 197, 368 (1965)

18. RAETTIG, H.

Orale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen. 3. Mitteilung: Dosierung und Impfrhythmus bei der spezifischen Impfung der Maus gegen Salmonella-Enteritis.

Zbl. Bakt. I. Orig. 203, 478 (1967)

19. RAETTIG, H., BUSE, A.

Orale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihrer Antigenen. 4. Mitteilung: Serumantikörper der Maus nach spezifischer Impfung gegen Salmonellen-Enteritis.

Zbl. Bakt. I. Orig. 204, 221 (1967)

20. VLADOIANU, I.R., DIMACHE, G., ANTOHI, S., VLADOIANU, C., and ZARMA, O.

Laboratory tests on the effectiveness of oral vaccination of young children against typhoid and paratyphoid A and B.

Bull. Wld. Hlth. Org. 32, 37 (1965)

21. YUGOSLAV TYPHOID COMMISSION

Field and laboratory studies with typhoid vaccines.

Bull. Wld. Hlth. Org. 16, 897 (1957)

22. A controlled field trial of the effectiveness of acetone-dried and inactivated and heat-phenol inactivated typhoid vaccines in Yugoslavia.

Bull. Wld. Hlth. Org. 30, 632 (1964)

Für die stets freundliche Hilfsbereitschaft und Beratung während der Durchführung der Arbeit möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. Raettig herzlich bedanken.

Frau Ganze und ihren Mitarbeitern danke ich für die Unterstützung bei den Tierversuchen.

Mein weiterer Dank gilt den Behringwerken, Marburg, für die Überlassung der Impfstoffe.

Lebenslauf

Am 20.5.41 wurde ich als Sohn des Oberstudienrates Dr. Anton Kociok und dessen Ehefrau Brigitte, geb. Jungnickel, in Berlin geboren. Nach sechs Grundschuljahren besuchte ich die Tannenberg-Schule in Berlin-Steglitz, an der ich 1960 die Reifeprüfung ablegte. Im selben Jahr begann ich das Medizinstudium an der Freien Universität Berlin, bestand dort 1961 die naturwissenschaftliche Vorprüfung, 1963 die ärztliche Vorprüfung und 1967 das Staatsexamen. Nach Ableistung der Medizinalassistentenzeit in Berliner Krankenhäusern wurde mir am 2.5.69 die Bestallung als Arzt erteilt. Seit August 1969 bin ich Assistenzarzt der internen Abteilung des Paul Gerhardt-Stift Krankenhauses.

